

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-023883

(43)Date of publication of application : 28.01.1997

(51)Int.Cl.

G12N 15/09
A61K 38/22
A61K 38/22
C07H 21/04
G12P 21/02
// G12N 1/21
G12P 21/02)
G12R 1:19)
G12N 1/21
G12R 1:19)

(21)Application number : 08-147369

(71)Applicant : BOEHRINGER MANNHEIM GMBH

(22)Date of filing : 10.06.1996

(72)Inventor : LANG KURT DR
BARTKE ILSE DR
NAUJOKS KURT DR
RUDOLPH RAINER
STERN ANNE DR

(30)Priority

Priority number : 91 4139000 Priority date : 27.11.1991 Priority country : DE.

(54) PRODUCTION OF BIOLOGICALLY ACTIVE BETA-NGF BY GENETIC ENGINEERING OPERATION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a method for producing a biologically active β -NGF (nerve growth factor), effective on cost and capable of simply producing the biologically active human β -NGF in a procaryote, especially E. coli.

SOLUTION: (a) A DNA sequence containing a DNA is expressed in a procaryote host organism. The DNA codes for the sequence of 118 amino acids of mature β -NGF or an amino acid sequence obtained by cleaving off the amino acids ranging from the N-terminal amino acid to the ninth amino acid from the sequence of 118 amino acids of the mature NGF. (b) The insoluble aggregates of the inactive β -NGF obtained after the expression are converted into a soluble active form by a solubilization treatment and a pulse regeneration treatment using a redox system selected from cystamine/cysteamine and cystine/ cysteine. Therein, the pulse regeneration treatment is carried out at a temperature of 2-10° C and at a pH of 8-10 in the presence of arginine. The biologically active β -NGF is obtained by the expression of the DNA sequence in the procaryote host cell by the method comprising the above-described processes.

D2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-23883

(43) 公開日 平成9年(1997)1月28日

(51) Int. Cl.	識別記号	片内整理番号	F I	主表示指示箇所
C 1 2 N 15/09		9162-4B	C 1 2 N 15/00	A
A 6 1 K 39/22	A A B		C 0 7 H 21/04	B
	A A M		C 1 2 P 21/02	Z N A H
C 0 7 H 21/04		7804-4B	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 P 21/02	Z N A		A 6 1 K 37/24	A A B

審査請求 有 前求項の数10 O L (全 16 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平9-147369	(71) 出願人	591215177
(62) 分割の表示	特願平4-818680の分割		パーリンガー、マンハイム ケーエムペー ハー
(22) 出願日	平成4年(1992)11月27日		ドイツ連邦共和国 88298 マンハイム、 ザンドホフアーシュラーセ 116
(31) 優先権主張番号	P 4 1 3 9 0 0 0 : 8	(72) 発明者	クルト ランク
(32) 優先日	1991年11月27日		ドイツ連邦共和国 8122 ベンツバーク ランゴナー シュトラッセ 10
(33) 優先権主張国	ドイツ (D E)	(72) 発明者	イルセ パルトケ
			ドイツ連邦共和国 8182 ツーツィンク フォン・ヒレーンウエック 2
		(74) 代理人	弁理士 平木 祐輔 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 遺伝子操作による生物活性 β -NGF の生産方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 原核生物、特に *E. coli* 中の活性ヒト β -NGF のコスト上有効な簡単な生産を可能にする方法の提供。

【解決手段】 (a) 成熟 β -NGF の 118 個のアミノ酸配列または成熟 β -NGF の 118 個のアミノ酸配列の N-末端側から 9 個までのアミノ酸がプロテアーゼを使用して開裂されるアミノ酸配列をコードする DNA を含有する DNA 配列を原核宿主生物中で発現させ、

(b) 発現後に得られた不活性 β -NGF の不溶性凝集物をシスタミン/システアミン及びシステイン/システインから選ばれる酸化還元系の助けによる可溶性およびバブルス再生により可溶性の活性形態に変換し、このバブルス再生は、アルギニンの存在下 2℃から 10℃の間の温度および 8-10 の pH で実施される、工程からなる原核宿主細胞中での該 DNA 配列の発現による生物活性 β -NGF (神経成長因子) の製造方法。